



**⑫ Patentschrift
⑩ DE 40 12 600 C 2**

⑤1 Int. Cl.⁶:
G 01 N 1/06

F 25 D 3/10
F 25 D 29/00
B 01 L 7/00
G 01 N 1/42

②1) Aktenzeichen: P 40 12 600.5-52
②2) Anmeldetag: 20. 4. 90
④3) Offenlegungstag: 29. 11. 90
④5) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 14. 5. 98

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

③〇 Unionspriorität:
1270/89 26. 05. 89 AT

⑦2. Erfinder:

⑦3 Patentinhaber:
LEICA AG, Wien, AT

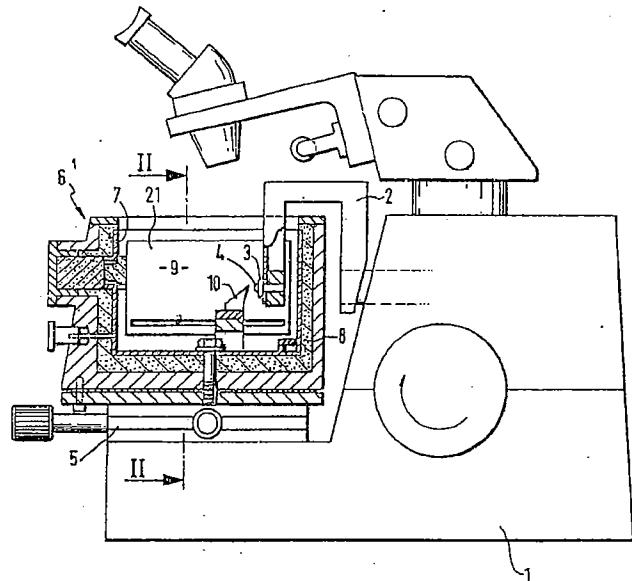
56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

⑦4 Vertreter:
LOUIS, PÖHLAU, LOHRENTZ & SEGETH, 90409
Nürnberg

J.Phys.E: Sci.Instrum., Vol. 12 (1979) S. 872-874;

⑤4 Mikrotom

57) Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, mit einer Kühlkammer (6'), mit einem von oben zugänglichen und beobachtbaren Kühlkammerraum (9, 9'), in welchem ein Objekthalter (3) zur Halterung eines zu bearbeitenden Objekts (4) sowie ein Bearbeitungswerkzeug (10) für das Objekt angeordnet sind, wobei Objekthalter (3) und Bearbeitungswerkzeug (10) zur Einstellung einer gewünschten Temperatur mittels Heizwiderständen gesteuert temperierbar sind, mit einem Vorratstank (12') zur Aufnahme eines flüssigen Kryogens, der über eine in den Kühlkammerraum (9, 9') mündende Zuführleitung für verdampftes, gasförmiges Kryogen mit dem Kühlkammerraum (9, 9') verbunden ist, und mit einem beheizbaren Element im Strömungsweg des gasförmigen Kryogens zur Einstellung einer vorbestimmten Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum (9, 9'), dadurch gekennzeichnet, daß das beheizte Element als ein die Zuführleitung (22') bildender Heizkörper (21') ausgebildet ist, der in seiner zum Kühlkammerraum (9, 9') gerichteten Seitenwand eine Mehrzahl von übereinander angeordneten Mündungsöffnungen (24') für das gasförmige Kryogen aufweist und daß der Heizkörper (21') an den Vorratstank (12') über eine schlecht wärmeleitende Verbindungsleitung (20') angeschlossen ist.



Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Mikrotom mit den Merkmalen gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruches 1.

Bei der Kryopräparation von Objekten, insbesondere von biologischen Objekten, die einer nachfolgenden mikroskopischen oder elektronenmikroskopischen Untersuchung unterzogen werden, ist es erforderlich, die Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum exakt einzustellen. Dabei soll es möglich sein, die Temperatur innerhalb eines relativ breiten Temperaturbereiches von etwa -40°C bis -160°C einzustellen. Während es relativ leicht ist, die Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum in der Nähe der unteren Temperaturgrenze, d. h. in der Nähe von -160°C, einzuregeln, erweist es sich als problematisch, die Temperatur der Gasatmosphäre in dem mittleren und oberen Temperaturbereich so einzustellen, daß sich über den ganzen Kühlkammerraum eine gleichmäßige Temperatur ergibt.

Zahlreiche Objekte erfordern eine Bearbeitungstemperatur, z. B. beim Schneiden, in dem mittleren oder höheren Temperaturbereich, weil sie bei tiefer Temperatur spröde werden und keine sauberen Schnitte ergeben. Die Bearbeitungstemperatur wird durch regelbare Heizwiderstände in dem Objekthalter und in dem Bearbeitungswerkzeug eingestellt. Jedoch ist der Wärmeabfluß aus dem Schneidenbereich des Bearbeitungswerkzeuges und aus der Objektspitze in die kalte Gasatmosphäre des Kühlkammerraumes so groß, daß Schneide und Objektspitze stets eine nahe der Temperatur der Gasatmosphäre liegende Temperatur aufweisen.

Von einer bekannten Kühlkammer der eingangs angegebenen Art (WO 88/02 851 A3) ist es daher schon bekannt, nicht nur das Bearbeitungswerkzeug und den Objekthalter zu beheizen, sondern auch das den Kühlkammerraum füllende gasförmige Kryogen. Dies erfolgt mittels einer Gasheizplatte, welche über dem Boden des Kühlkammerraumes so angeordnet ist, daß das aus der Mündungsöffnung der Zuführleitung austretende gasförmige Kryogen darüber hinwegstreifen kann und sich dabei erwärmt.

Es hat sich gezeigt, daß eine einwandfreie Temperaturverteilung der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum auf diese Weise nicht erzielbar ist. Dies röhrt offensichtlich daher, daß nur eine dünne Schicht des über die Heizplatte hinwegstreichenden gasförmigen Kryogens auf die gewünschte Temperatur erwärmt wird und im Kühlkammerraum aufsteigt, ohne darin zu einer gleichmäßigen Temperaturverteilung zu führen. Auch können sogar wegen der vorhandenen Temperaturgradienten störende Turbulenzen in der Gasatmosphäre des Kühlkammerraumes auftreten, die nicht nur den normalen Schneidebetrieb stören, sondern sogar ein Eindringen von feuchter Luft in den Kühlkammerraum ermöglichen können. Diese feuchte Luft führt dann zur Frostbildung an Bearbeitungswerkzeug und Objekt, so daß eine einwandfreie Bearbeitung nicht mehr möglich ist.

Aus der Veröffentlichung J. Phys. E: Sci. Instrum., Vol. 12, (1979) S. 872-874 ist eine mit Stickstoff kühlabare Kammer für optische Experimente bekannt. In der Zuführleitung für den Stickstoff ist ein Heizkörper zur Erwärmung des Stickstoffs angeordnet.

In der DE 34 07 458 A1 wird eine Vorrichtung zum intervallartigen Durchfluten eines von einer Wandung umgebenen Raumes mit einem Gas beschrieben. Die Vorrichtung zeichnet sich dadurch aus, daß der Raum längs der Wandung sich erstreckende Kanäle aufweist.

Aus der DE 33 29 855 C2 ist ein als Heißluftsterilisator ausgebildeter Labor-Wärmeschrank bekannt, der einen mäanderförmig gebogenen Heizkörper mit zwei elektrischen und/oder mechanischen Anschlußstellen aufweist. Der

Heizkörper ist dabei in einer von einem Innenkessel und einem Außenkessel gebildeten Vorkammer angeordnet.

In der DE 35 17 518 A1 wird eine Kühlkammer zum Bearbeiten von Objekten für mikroskopische oder elektronenmikroskopische Untersuchungen beschrieben, die zwischen der Arbeitskammer und dem Kühlmittelgefäß einerseits und einem Isoliergefäß andererseits einen Zwischenraum zur besseren Wärmeisolierung aufweist. Das verdampfte Kühlmittel strömt hier unmittelbar in die Arbeitskammer.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, die aus der WO 88/02851 A3 bekannte Kühlkammer so weiterzubilden, daß eine gleichmäßige Temperaturverteilung in der Gasatmosphäre des Kühlkammerraumes erzielbar ist und dadurch das Bearbeitungswerkzeug und das Objekt auf die jeweils gewünschte Temperatur eingestellt werden können.

Erfundungsgemäß wird diese Aufgabe durch ein Mikrotom mit den Merkmalen des Patentanspruches 1 gelöst.

Dabei wird eine Erwärmung des in den Kühlkammerraum bereits eingetretenen gasförmigen Kryogens vermieden und vielmehr dafür gesorgt, daß von vornherein nur gasförmiges Kryogen gleichmäßiger Temperierung einströmt. Da die

von der Oberseite des Vorratstanks für das flüssige Kryogen zum Boden des Kühlkammerraumes führende Zuflußleitung selbst als Heizkörper ausgebildet ist und das abgedampfte gasförmige Kryogen auf seinem Weg in den Kühlkammerraum vollständig umschließt, besteht ausreichend Zeit und Wegstrecke, um eine vollkommen gleichmäßige Erwärmung des Kryogen-Gasstromes bis zur Mündungsöffnung zu erzielen. Dabei kann der Wärmeübergang an den Kryogen-Gasstrom im Inneren des Heizkörpers gezielt beeinflußt werden, indem beispielsweise der Strömungsquerschnitt entsprechend gestaltet wird. So kann sich der Heizkörper über die ganze Breite des Kühlkammerraumes längs einer Wand davon erstrecken und dementsprechend auch der den

Strömungsquerschnitt bildende Innenraum entsprechend gestaltet sein. Damit steht eine große Wärmeübergangsfläche zur Verfügung, so daß eine gleichmäßige Erwärmung des Gasstromes gewährleistet ist. Eine zusätzliche Maßnahme kann darin bestehen, den Zuflußweg für den Kryogen-Gasstrom im Inneren des Heizkörpers zickzack- oder mäanderförmig auszubilden und dadurch zu verlängern.

Die Mündungsöffnungen in dem Heizkörper, aus denen das gasförmige Kryogen in den Kühlkammerraum eintritt, sind vorzugsweise schlitzförmig und verlaufen etwa parallel zum Boden des Kühlkammerraumes in einem geringen Abstand über diesem. In der dem Kühlkammerraum zugewandten Seitenwand des Heizkörpers sind mehrere Mündungsöffnungen, z. B. in Form übereinander parallel verlaufender Schlitze oder in Form einer Perforation, angeordnet. Hierdurch ist es möglich, horizontale, nahezu laminare Strömungsschichten in dem Kühlkammerraum zu erhalten, die zu einer entsprechend ruhigen stationären Strömung führen.

Durch eine Regelung der Temperatur des Heizkörpers läßt sich die gewünschte Temperatur des einströmenden gasförmigen Kryogens auf den gewünschten Wert einstellen, so daß ein möglichst geringer Temperaturgradient zwischen dem Bearbeitungswerkzeug und dem Objekt gewährleistet ist.

Weitere Vorteile und Merkmale des Mikrotoms ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung eines Ausführungsbeispiels.

In den Zeichnungen zeigt

Fig. 1 eine Seitenansicht eines Ultramikrotoms, teilweise im Bereich der Kühlkammer geschnitten;

Fig. 2 einen Querschnitt durch die Kühlkammer längs der Linie II-II in Fig. 1, wobei aus Gründen der Übersichtlichkeit die übrigen Komponenten des Ultramikrotoms nicht dargestellt sind:

Fig. 3 einen Schnitt längs der Linie III-III in **Fig. 2**.

Das in **Fig. 1** dargestellte Ultramikrotom 1 weist einen Objekt-Trägerarm 2 in Gestalt einer sog. CHRISTENSEN-Brücke auf, an dessen vorderem Ende ein Objekthalter 3 für ein zu bearbeitendes biologisches Objekt 4 angeordnet ist. Auf der Basis 5 des Ultramikrotoms 1 ist eine im Ganzen mit 6' bezeichnete Kühlkammer befestigt. Die Kühlkammer 6' hat im wesentlichen die Form einer Schachtel und weist eine aus gut wärmeleitendem Material bestehenden Innenwand 7 auf, die an ihrer Außenseite durch eine Schicht 8 aus wärmeisolierendem Material allseitig umschlossen ist. In dem Kühlkammerraum 9 ist ein Bearbeitungswerkzeug 10 in Form eines Messers so angeordnet, daß bei Auf- und Abbewegungen des Objekts 4 relativ zu dem Messer 10 Objektschnitte erzeugt werden können. Aufbau und Wirkungsweise des Ultramikrotoms 1 bezüglich des Schneidevorganges sind von bekannter Art und nicht Teil der vorliegenden Erfindung. Sie bedürfen daher an dieser Stelle keiner näheren Erläuterung.

Der linke Teil der Kühlkammer 6' bildet einen Vorratstank 12' für ein flüssiges Kryogen, vorzugsweise für flüssigen Stickstoff (LN2), der auch an seiner Oberseite durch die Wärmeisolationschicht 8 bedeckt ist. Eine Trennwand 13 in dem Vorratstank 12', die sich bis nahe an den Boden des Vorratstanks erstreckt, teilt dessen Innenraum in einen Nachfüllteil 14 und einen Verdampferteil 15'. Durch eine Nachfülleitung 16 kann bei Bedarf weiterer LN2 nachgefüllt werden. Turbulente Gasströmungen, die beim Nachfüllen entstehen können, werden über eine kleine Öffnung 17 in der Wärmeisolationschicht 8 abgeleitet und können daher das Temperaturgleichgewicht im Kühlkammerraum 9' nicht beeinflussen.

Der Vorratstank 12' erstreckt sich über die ganze Breite des Kühlkammerraumes 9' und weist an seiner dem Kühlkammerraum 9' zugewendeten Seitenwand 18 über dem LN2-Spiegel eine schlitzförmige Verbindungsöffnung 19 auf. An diese ist auf nicht näher gezeigte Art eine kurze Verbindungsleitung 20' aus einem schlecht wärmeleitenden Material angeschlossen, an deren äußerem Ende, ebenfalls in nicht näher gezeigter Weise, der Heizkörper 21' befestigt ist. Der Heizkörper 21' hat im wesentlichen die Form eines flachen Quaders und erstreckt sich, wie aus **Fig. 1** erkennbar ist, ebenfalls wenigstens über die Breite des Kühlkammerraumes 9'. Er bildet die Zuflußleitung für den aus dem LN2 abdampfenden gasförmigen Stickstoff zum Kühlkammerraum 9' und weist zu diesem Zweck einen hohen Innenraum auf, der zu im unteren Teil angeordneten Mündungsöffnungen 24' führt. Im unteren Abschnitt des Heizkörpers 21' ist ein Heizwiderstand 25' eingebaut, der durch eine nicht dargestellte Regelung den Heizkörper 21' auf einer einstellbaren Temperatur hält.

Ist es notwendig, ein Objekt 4 bei einer bestimmten Temperatur zu schneiden, die in einem mittleren Temperaturbereich von beispielsweise -80°C liegt, dann wird mittels der nicht gezeigten Heizwiderstände in dem Objekthalter 3 und in dem Bearbeitungswerkzeug 10 an diesen eine bestimmte Temperatur eingestellt. Die Wärmezufuhr zur Erzeugung dieser vorbestimmten Temperatur erfolgt ebenfalls geregelt durch eine nicht gezeigte Regeleinrichtung, wie dies im Stand der Technik bekannt ist. Außerdem wird durch entsprechende Beheizung des Heizwiderstandes 25' der Heizkörper 21' auf eine bestimmte Temperatur erwärmt. Der von der LN2-Oberfläche abdampfende gasförmige Stickstoff wird aus dem geschlossenen Verdampferteil 15' in den Heizkörper 21' gedrückt und strömt durch diesen nach unten zu den Mündungsöffnungen 24'. Auf dem Wege dahin nimmt der gasförmige Stickstoff Wärme von den Wandungen des Heizkörpers 21' auf, so daß seine Temperatur sich auf den

gewünschten Wert erhöht. Durch nicht gezeigte Sensoren in dem Kühlkammerraum 9' kann die Temperatur des aus den Mündungsöffnungen 24' austretenden gasförmigen Stickstoffes überwacht und dementsprechend die Heizleistung des Heizwiderstandes 25' eingeregelt werden. Da dem Kühlkammerraum 9' nur gleichmäßig erwärmtes Stickstoffgas zuströmt stellt sich dabei eine gleichmäßige Temperaturverteilung ein.

Der Heizkörper 21' ist im wesentlichen quaderförmig und weist mit einer seiner Schmalseiten zu dem Vorratstank 12', d. h. er ist längs der Innenwandung 7' der Kühlkammer 6' angeordnet. Auf diese Weise wird bei der Beheizung des Heizkörpers 21' eine geringere Wärmemenge durch Strahlung an den Vorratstank 12' abgegeben. Der Heizkörper 21' ist durch ein Abstützelement 30' aus schlecht wärmeleitendem Material auf dem Boden des Kühlkammerraumes 9' abgestützt und über einen Rohrstutzen 20' aus schlecht wärmeleitendem Material an den Verdampferteil 15' angeschlossen.

Der Innenraum 22' des Heizkörpers 21', der wiederum die Zuflußleitung für den gasförmigen Stickstoff bildet, ist im wesentlichen ebenfalls quaderförmig. Er steht mit dem Kühlkammerraum 9' über eine Reihe von Löchern 24' in Verbindung, die in der dem Kühlkammerraum 9' zugewendeten Seitenwand des Heizkörpers 21' ausgebildet sind. Die Mündungslöcher 24' sind in drei Reihen übereinander angeordnet, so daß der in dem Heizkörper 21' strömende gasförmige Stickstoff durch jede Lochreihe austreten und in den Kühlkammerraum 9' einströmen kann, wie dies durch Pfeile in **Fig. 3** angedeutet ist.

Auf diese Weise entsteht eine laminare Schichtströmung, die zu einer gleichmäßigen Temperaturverteilung der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum 9' führt.

Der Heizkörper 21 bzw. 21' besteht zumindest in dem Teil seiner Wandungen, die die Zuflußleitung für den gasförmigen Stickstoff bilden, aus einem gut wärmeleitenden Material. Die Außenflächen des Heizkörpers 21 bzw. 21' können hingegen zur Vermeidung von Wärmeabgabe an die Kühlkammeratmosphäre mit einem schlecht wärmeleitenden Material beschichtet oder aus diesem gebildet sein.

Patentansprüche

1. Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, mit einer Kühlkammer (6'), mit einem von oben zugänglichen und beobachtbaren Kühlkammerraum (9, 9'), in welchem ein Objekthalter (3) zur Halterung eines zu bearbeitenden Objekts (4) sowie ein Bearbeitungswerkzeug (10) für das Objekt angeordnet sind, wobei Objekthalter (3) und Bearbeitungswerkzeug (10) zur Einstellung einer gewünschten Temperatur mittels Heizwiderständen gesteuert temperierbar sind, mit einem Vorratstank (12') zur Aufnahme eines flüssigen Kryogens, der über eine in den Kühlkammerraum (9, 9') mündende Zuführleitung für verdampftes, gasförmiges Kryogen mit dem Kühlkammerraum (9, 9') verbunden ist, und mit einem beheizbaren Element im Strömungsweg des gasförmigen Kryogens zur Einstellung einer vorbestimmten Temperatur der Gasatmosphäre in dem Kühlkammerraum (9, 9'), **dadurch gekennzeichnet**, daß das beheizte Element als ein die Zuführleitung (22') bildender Heizkörper (21') ausgebildet ist, der in seiner zum Kühlkammerraum (9, 9') gerichteten Seitenwand eine Mehrzahl von übereinander angeordneten Mündungsöffnungen (24') für das gasförmige Kryogen aufweist und daß der Heizkörper (21') an den Vorratstank (12') über eine schlecht wärmeleitende Verbindungsleitung (20') angeschlossen ist.

2. Mikrotom nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündungsöffnungen (24') in Reihen übereinander angeordnet sind.
3. Mikrotom nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündungsöffnungen (24') lochförmig oder schlitzförmig ausgebildet sind.
4. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper (21') und sein den Zuflußweg für das gasförmige Kryogen bildender Innenraum (22') sich über die Breite des Kühlkamerraumes (9, 9') erstrecken. 10
5. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Zuflußweg für das gasförmige Kryogen im Inneren des Heizkörpers (21') zick-zack-förmig verläuft. 15
6. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper (21') in seinem unteren Teil einen regelmäßigen Heizwiderstand (25') aufnimmt.
7. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizkörper (21') im wesentlichen quaderförmig ausgebildet ist und dem Vorratstank (12') mit seiner Schmalseite zugewendet ist. 20

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

25

30

35

40

45

50

55

60

65

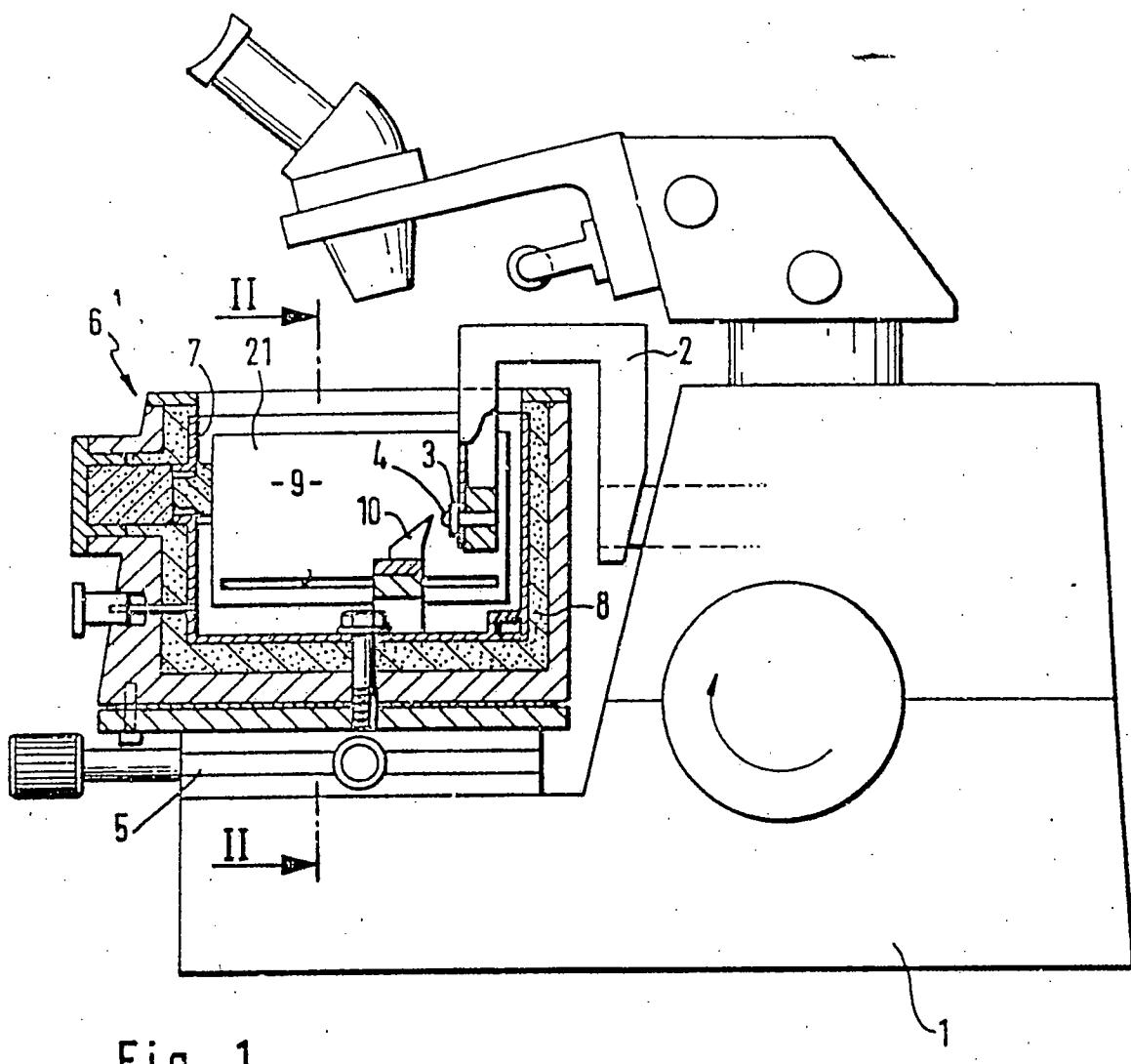


Fig. 1

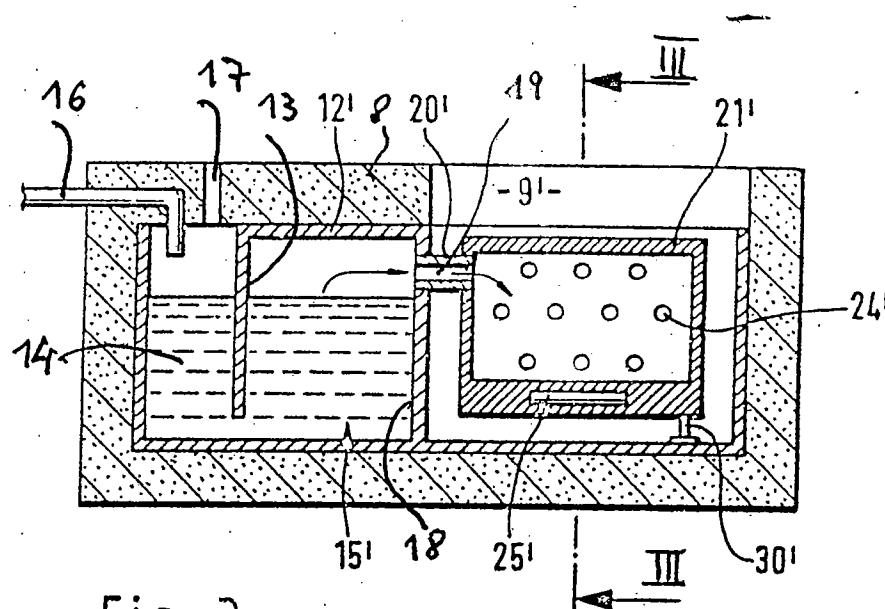


Fig. 2

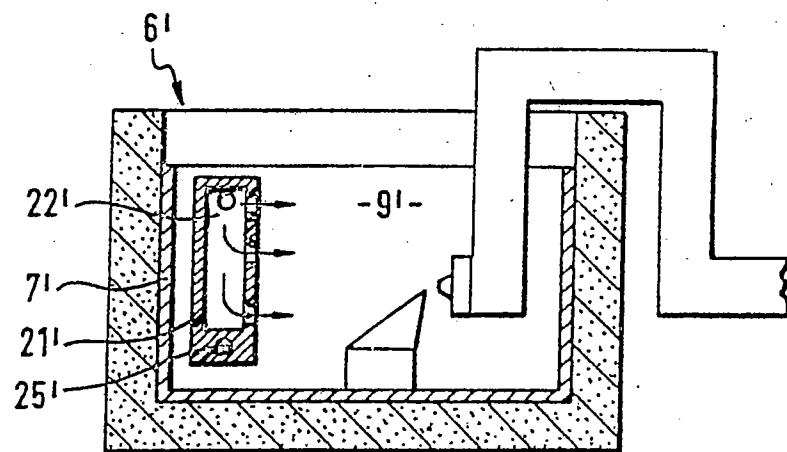


Fig. 3